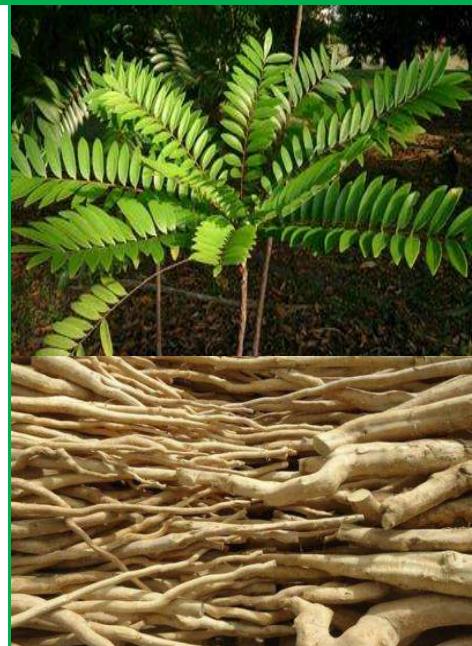
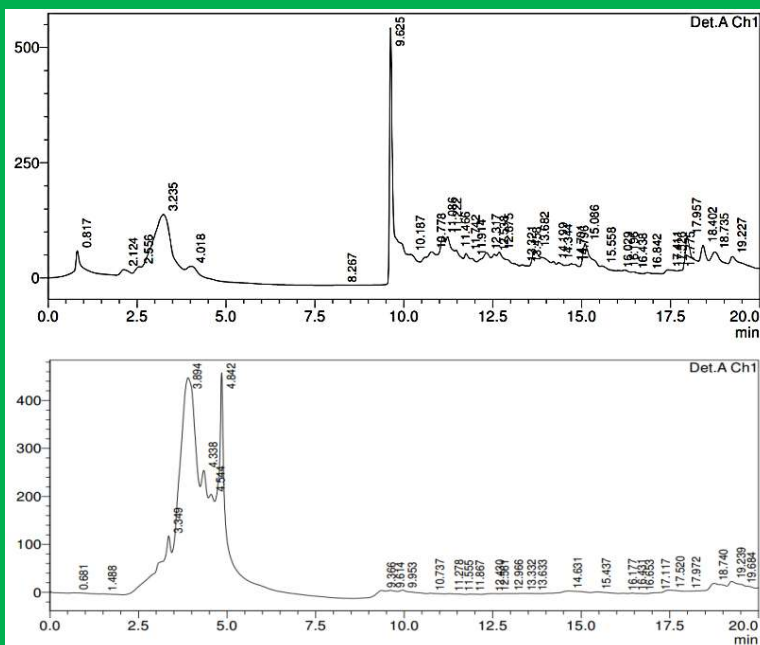


LAPORAN PENELITIAN

PERBANDINGAN KANDUNGAN DAN KONSENTRASI BAHAN AKTIF AKAR DAN DAUN PASAK BUMI



Peneliti:
Zulfahmi, S.Hut, M.Si



**LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
SULTAN SYARIF KASIM RIAU
2018**

**LAPORAN PENELITIAN
KLUSTER KAPASITAS PENGEMBANGAN
PROGRAM STUDI**

**PERBANDINGAN KANDUNGAN DAN
KONSENTRASI BAHAN AKTIF
DAUN DAN AKAR PASAK BUMI**

**PENELITI:
ZULFAHMI, S.Hut, M.Si**



**LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
SULTAN SYARIF KASIM RIAU
2018**



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
هيئة البحوث وخدمة المجتمع
INSTITUTE FOR RESEARCH AND COMMUNITY SERVICE

Jalan Sekeloa No. 155 KM 15 Simpang Baru Panam Pekanbaru 28255 PO. Box 1004 Web: lppm.uin-suska.ac.id Email: lppm@uin-suska.ac.id

PENGESAHAN

Nomor: Un.04/L.I/TL.01/ 2097 /2018

Judul : Perbandingan Kandungan dan Konsentrasi Bahan Aktif Akar
dan Daun Pasak Bumi.
Peneliti Utama : Zulfahmi, S.Hut, M.Si.
Anggota : -
Pangkat/Gol : Penata TK I / III d.
Fakultas/Unit : Pertanian dan Peternakan UIN Suska Riau
Kluster Penelitian : Kapasitas Pengembangan Program Studi
Lokasi : Kampar.
Waktu : Bulan Juni s.d November 2018

Telah diseminarkan pada
Hari/Tanggal: Selasa, 6 November 2018

Narasumber,

Dr. Dewi Febrina, S.Pt, MP.

Peneliti Utama,

Zulfahmi, S.Hut, M.Si.

Mengetahui:

Ketua,

Prof. Dr. M. Arrafie Abduh, M, Ag
NIP. 195807101985121002

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan taufiq dan hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan judul” Perbandingan kandungan dan Konsentrasi Bahan Aktif Daun dan Akar Pasak Bumi.

Saat ini senyawa bioaktif dari tanaman pasak bumi kebanyakan diekstrak dari bagian akarnya, tetapi dari bagian lain seperti daun belum ada dilaporkan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang jenis dan kandungan kimia yang ada di daun pasak bumi. Pengetahuan tentang kandungan kimia yang ada di daun pasak bumi sangat penting bila kita ingin mengembangkan obat herbal dari tanaman pasak bumi. Daun adalah organ tanaman yang lebih mudah diperoleh dibandingkan dengan akar tanaman, dapat dipanen berulang kali dan proses pengelohannya relative mudah. Saat ini senyawa bioaktif dari tanaman pasak bumi kebanyakan diekstrak dari bagian akarnya, tetapi dari bagian lain seperti daun belum ada dilaporkan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang jenis dan kandungan kimia yang ada di daun pasak bumi. Pengetahuan tentang kandungan kimia yang ada di daun pasak bumi sangat penting bila kita ingin mengembangkan obat herbal dari tanaman pasak bumi. Daun adalah organ tanaman yang lebih mudah diperoleh dibandingkan dengan akar tanaman, dapat dipanen berulang kali dan proses pengelohannya relative mudah.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau yang telah mendanai pelaksanaan penelitian ini. Akhir kata penulis mengharapkan semoga laporna penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Pekanbaru, November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Urgensi Penelitian.....	3
1.6 Target Temuan dan Kontribusi	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Morfologi Pasak bumi	5
2.2 Metabolik Sekunder Tanaman	6
2.3 Senyawa Bioaktif Pasak Bumi	9
BAB 3 METODELOGI PENELITIAN	11
3.1 Bahan dan Alat	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Ekstraksi Senyawa Bioaktif	11
3.4 Skrining Fitokima	12
3.5 Analisis Data	15
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Ekstraksi dan Skrining Fitokimia	16
4.2 Kadar Fenolik	18
4.3 Kadar Flavonoid	19
4.4 Uji aktivitas antioksidan	20
BAB 5 PENUTUP	25
5.1 Kesimpulan.....	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1.1 Perbandingan pemanenan akar dan daun pasak bumi sebagai sumber senyawa bioaktif	4
Tabel 4.1 Hasil uji fitokimia akar dan daun pasak bumi	17
Tabel 4.2 Waktu retensi, persentase area dan persentase tinggi kromatogram HPLC pada panjang gelombang 254 nm	23

DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 2.1 Mekanisme terbentuknya senyawa metabolik sekunder pada tanaman	7
Gambar 2.2 Beberapa Senyawa Bioaktif Eurycoma longifolia yang sering diisolasi dan digunakan untuk obat-obatan komersial	10
Gambar 2.3 Beberapa senyawa bioaktif Eurycoma longifolia menurut Guo et al. (2005)	10
Gambar 4.1 Rendemen ekstraksi daun dan akar pasak bumi dengan pelarut metanol	17
Gambar 4.2 Kandungan fenolik daun dan akar pasak bumi.....	19
Gambar 4.3 Kandungan flavonoid daun dan akar pasak bumi.....	20
Gambar 4.4 Kandungan antioksidan (IC50) pada daun dan akar pasak bumi	21
Gambar 4.5 Kromatogram HPLC daun dan akar pasak bumi pada panjang gelombang 254 nm	24

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Metabolit sekunder adalah hasil akhir dari suatu proses metabolisme. Ada tiga kelompok utama senyawa metabolik sekunder, yaitu kelompok terpenoid, fenolik, dan senyawa yang mengandung nitrogen (Campbell et al., 2002). Beberapa dari senyawa metabolit sekunder tersebut diantaranya dapat memberikan efek fisiologis dan farmakologis seperti senyawa aktif atau komponen bioaktif. Komponen bioaktif merupakan suatu senyawa fungsional yang terdapat dalam bahan dan dapat memberikan pengaruh biologis maupun fisiologis. Metabolit sekunder dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibiotik, antikanker, antikoagulan darah, menghambat efek karsinogenik (Copriady et al. 2005).

Pasak bumi merupakan salah satu tanaman obat potensial yang mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti senyawa Quassionoids (Chan et al., 1998), Eurycomanone, Eurycomalactone, alkaloid, alkaloid karbolin, turunan squalen, 14,15 β -Dihydroxyklaineaneone, canthion-6-one dan 9-Methoxycanthin-6-one (Ismail et al., 1999; Mahmood et al., 2011; Chua et al., 2011). Senyawa-senyawa tersebut dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk antimalaria (Chan et al., 2005), anti mikroba (Bhat dan Karim, 2010), mencegah kanker payudara (Tee dan Azimahtol, 2005), bahan insektisida (Lina et al., 2009), meningkatkan hormon *testosterone* (Tambi et al., 2011), dan mencegah osteoporosis (Effendi et al., 2012).

Banyaknya khasiat dari tanaman pasak bumi ini membuat permintaan akan bahan tanaman tersebut cenderung meningkat. Sekarang pembuatan herbal pasak bumi dalam bentuk serbuk dan cairan telah dikembangkan di Malaysia. Namun, di Indonesia pengembangan tanaman ini belum maksimal dan belum memberikan kontribusi ekonomi yang berarti, padahal Indonesia yang juga memiliki tanaman pasak bumi yang beragam, ditambah lagi jumlah penduduk Indonesia yang besar sebagai pangsa pasar yang potensial.

Saat ini senyawa bioaktif dari tanaman pasak bumi kebanyakan diekstrak dari bagian akarnya, tetapi dari bagian lain seperti daun belum ada dilaporkan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang jenis dan kandungan kimia yang ada di daun pasak bumi. Pengetahuan tentang

kandungan kimia yang ada di daun pasak bumi sangat penting bila kita ingin mengembangkan obat herbal dari tanaman pasak bumi.

Daun adalah organ tanaman yang lebih mudah diperoleh dibandingkan dengan akar tanaman, dapat dipanen berulang kali dan proses pengelohannya relative mudah. Banyak penelitian melaporkan bahwa kandungan dan jenis metabolit sekunder sangat bervariasi dalam jumlah dan jenisnya dari setiap tumbuhan, bahkan antar organ dalam satu tanaman juga ada perbedaan dari sisi kuantitasnya, misalnya tanaman nilam memiliki kandungan minyak yang tinggi pada bagian daun dibandingkan dengan bagian lain (Hariyani et al., 2015), tanaman jarak pagar memiliki kandungan minyak yang lebih tinggi di dalam buahnya (Widiarsi dan Dwimahyan, 2010).

Untuk mengetahui konsentrasi dan komponen bioaktif yang ada pada daun dan akar pasak bumi dapat dilakukan serangkaian uji fitokimia yang meliputi uji komponen alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, fenol hidrokuinon, tannin dan uji lainnya. Uji fitokimia bertujuan untuk menentukan ciri senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan maupun senyawa aktif penyebab efek racun dengan cara ekstrak kasar (Harborne 1987). Hasil uji ini dapat digunakan sebagai dasar dalam menyusun strategi pengembangan tanaman pasak bumi di masa depan.

1.2. Rumusan Masalah

Selama ini, bagian tanaman pasak bumi yang dimanfaatkan oleh masyarakat adalah bagian akar sedangkan bagian lain seperti daun jarang sekali digunakan, sehingga menimbulkan pertanyaan kenapa daun pasak bumi belum dimanfaatkan oleh masyarakat? Apakah kandungan dan konsentrasi bahan aktif daun pasak bumi berbeda dengan kandungan dan konsentrasi bahan aktif dibagian akarnya? Untuk menjawab semua itu perlu dilakukan pengujian kandungan kimia kedua bagian tanaman pasak bumi tersebut.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan dan konsentrasi bahan aktif bagian akar dan daun pasak bumi.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah: 1) Dengan mengetahui kandungan kimia bagian daun pasak bumi maka kita dapat membuat strategi pengembangan

obat herbal yang berasal dari daun pasak bumi, 2) Informasi penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan kebun pangkas (hedge orchard) tanaman pasak bumi sebagai sumber bahan baku obat herbal di masa mendatang. 3) Mengurangi tekanan terhadap populasi pasak bumi di alam sehingga kelestarian pasak bumi di hutan alam tetap terjaga.

1.5. Urgensi Penelitian

Pemerintah Indonesia telah menetapkan pasak bumi sebagai salah satu tumbuhan yang harus dilindungi dari kepunahan melalui Peraturan Menteri Pertanian Nomor: 511/Kpts/PD.310/9/2006. Hal ini karena pasak bumi memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai obat-obatan sehingga tanaman ini banyak dipanen dari alam baik oleh masyarakat lokal sebagai obat tradisional untuk tujuan konsumsi keluarga maupun oleh pengusaha sebagai bahan baku obat modern, tindakan ini tentunya akan menyebabkan penurunan jumlah dan ukuran populasi pasak bumi di alam, sementara itu kemampuan regenerasi tanaman pasak bumi di alam sangat lambat dan apabila kondisi ini terus terjadi maka bisa saja pasak bumi akan terancam hilang.

Bagian tanaman pasak bumi yang banyak dimanfaatkan adalah bagian akar sementara bagian lainnya (daun) dibuang atau tidak dimanfaatkan. Hal itu terjadi karena selama ini kita menganggap atau mendapat informasi dari masyarakat disekitar hutan bahwa bagian daun pasak bumi tidak memiliki khasiat obat. Penelitian tentang kandungan dan konsentrasi kimia bagian daun pasak bumi belum dilakukan. Oleh karena itu penelitian untuk mengetahui kandungan dan konsentrasi senyawa kimia yang ada di daun pasak bumi urgen untuk dilakukan. Apabila kandungan kimia dan konsentrasi bagian daun dan akar pasak bumi tidak jauh berbeda tentu ke depannya kita tidak perlu lagi memanen senyawa bioaktif pasak bumi dari bagian akar tetapi cukup dari daunnya saja. Bila hal itu dapat dilakukan tentunya tekanan terhadap pasak bumi di populasi alamnya dapat berkurang, dan penyediaan bahan baku obat-obatan dari pasak bumi lebih mudah, cepat dan kontinu tanpa mencabut plasmanuftah. Keuntungan dan kerugian pengambilan akar dan daun pasak bumi sebagai sumber senyawa bioaktif untuk obat-obatan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1.1. Perbandingan pemanenan akar dan daun pasak bumi sebagai sumber senyawa bioaktif.

Parameter	Akar	Daun
Cara mendapatkan	Tanaman harus dicabut	Tanaman tidak perlu dicabut
Kondisi tanaman	Setelah panen tanaman mati	Setelah panen tanaman tidak mati
Periode panen	Panen hanya sekali	Panen bisa berulang-ulang
Umur panen	Waktu panen lebih lama	Waktu panen lebih cepat
Ketersediaan	sedikit	banyak

1.6. Target Temuan dan Kontribusi

Target temuan utama dari penelitian ini adalah diketahuinya kandungan dan konsentrasi kimia daun dan akar pasak bumi yang berasal dari hutan larangan adat Rumbio, sehingga kita dapat merumuskan strategi pengembangan obat herbal dari pasak bumi. Temuan ini akan dapat memperkaya khasanah ilmu pengetahuan khususnya obat-obatan herbal, dan tentunya informasi ini dapat dipublikasikan di jurnal terakreditasi atau jurnal internasional dan secara langsung nama UIN Suska Riau akan semakin populer serta dapat mendorong terwujudnya cita-cita institusi ini menjadi World Class University.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Morfologi Pasak Bumi

Eurycoma longifolia Jack adalah salah satu anggota famili Simaroubaceae. *E. longifolia* memiliki nama lokal yang berbeda untuk setiap daerah seperti *Tongkat Ali* (Malaysia), *Pasak Bumi* (Indonesia), *Ian-don* (Thailand) dan *cay ba binh* (Vietnam). Di Indonesia, pasak bumi banyak tumbuh di hutan Sumatera dan Kalimantan dan tidak ditemukan di pulau Jawa (Hayne, 1987). Menurut Hadiyah (2000) tumbuhan pasak bumi banyak dijumpai pada tanah masam, berpasir dan beraerasi baik pada ketinggian dibawah 1200 meter diatas permukaan laut (mdpl), biasanya pasak bumi ditemukan di hutan primer dan di hutan sekunder bersama dengan jenis Dipterocarpaceae.

Heyne (1987) menyatakan bahwa pasak bumi merupakan pohon yang tingginya mencapai 6 m. Hadiyah (2000) menyatakan pasak bumi umumnya berbentuk semak, atau pohon kecil yang tingginya jarang mencapai 10 meter dan diameter batang 15 cm. Batang pasak bumi, umumnya tidak bercabang, berwarna coklat keabu-abuan, dan licin. Daunnya majemuk menyirip, berjumlah ganjil, panjang 0.3-1 meter dengan anak daun berjumlah 20-30 pasang, berbentuk oblong, bergelombang, warna anak daunnya hijau tua dengan ukuran 5-25 cm x 1.25-3 cm, pinggirnya bergelombang, dan tangkai daunnya berwarna coklat kehitaman.

Pasak bumi memiliki buah dengan panjang 1.25 cm, berbentuk oblong, ketika masak warnanya menjadi kuning kemudian merah. Bunganya berwarna merah jingga, lebar bunga 0,6 cm, berbulu halus dengan benjolan kelenjar diujungnya. Penyebaran benih pasak bumi umumnya hanya terbatas di sekitar pohon induk dan penyebaran ke tempat yang lebih jauh lagi hanya mungkin terbawa oleh aliran air hujan atau pun vektor lain (Hadiyah, 2000). Hussein *et al.* (2005) menyatakan bahwa benih pasak bumi tergolong kepada benih rekalsitran yaitu memiliki sifat yang tidak tahan untuk disimpan dalam jangka waktu yang lama. Persentase perkecambahan pasak bumi sangat rendah di habitat alaminya dan membutuhkan waktu yang cukup lama, hal ini disebabkan karena embrio yang belum cukup masak pada saat pemasakan buah.

2.2. Metabolik Sekunder Tanaman

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolik yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbedabeda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu species dalam suatu famili. Senyawa metabolik ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu. Fungsi metabolit sekunder bagi tanaman adalah a) berperan penting untuk resistensi, b) Melindungi tumbuhan dari gangguan herbivor dan menghindari infeksi yang disebabkan oleh patogen mikrobial, c). Menarik polinator dan hewan penyebar biji, d) Berperan sebagai agen kompetisi antar tanaman. Senyawa metabolit sekunder merupakan hasil samping atau intermediat metabolisme primer, seperti terlihat pada Gambar 2.1 (Champbell et al., 2002). Senyawa metabolit sekunder diklasifikasikan menjadi 3 kelompok utama, yaitu:

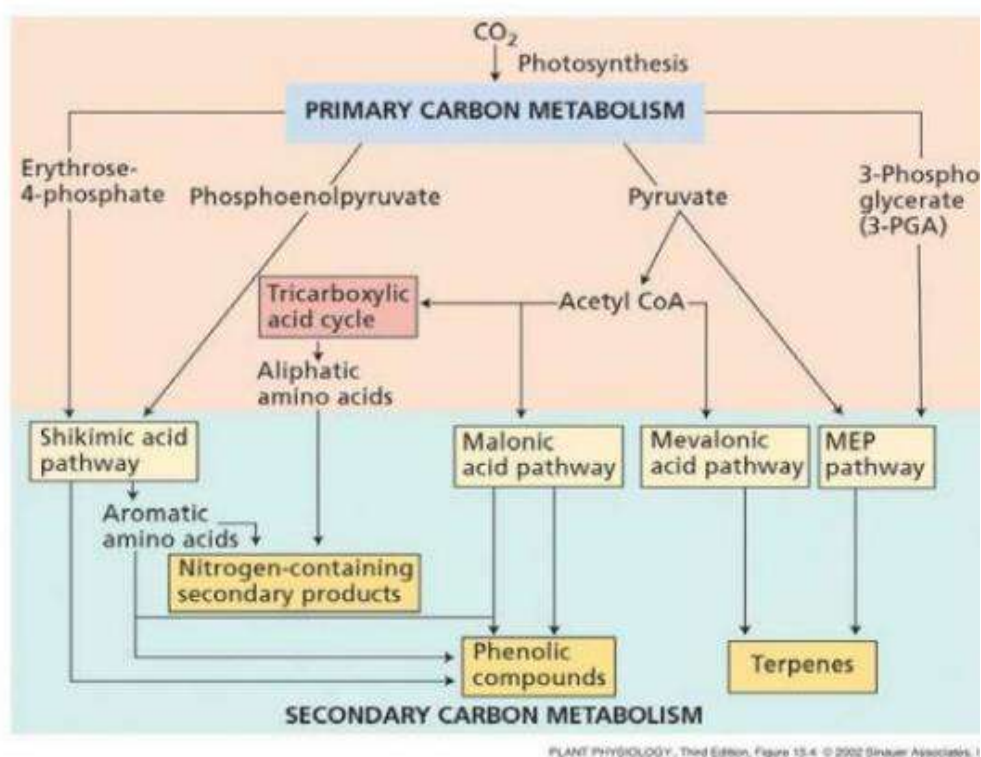
- a) Kelompok Terpenoid, yaitu senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen serta disintesis melalui jalur metabolisme asam mevalonat.
- b) Kelompok Fenolik, yaitu senyawa ini terbuat dari gula sederhana dan memiliki cincin benzena, hidrogen, dan oksigen dalam struktur kimianya.
- c) Kelompok Senyawa yang mengandung nitrogen.

Terpen merupakan kelompok metabolit sekunder yang terbesar, umumnya tidak larut dalam air, konstituen minyak esensial, lipid yang disintesis dari asetil KoA atau dari intermediat glikolisis melalui lintasan asam mevalonat. Semua terpen disusun oleh unit isopren ber-C₅. Pada suhu tinggi terpen dapat didekomposisi menjadi unit-unit isopren. Terpen diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit isopren (Lehninger and Wagener, 1987), yaitu:

- ✚ Monoterpen : mengandung 10-karbon terpen atau 2 unit C₅;
- ✚ sesquiterpen: mengandung 15-karbon terpen atau 3 unit C₅;
- ✚ diterpen mengandung 20-karbon terpen atau 4 unit C₅.
- ✚ triterpen mengandung 30 karbon),
- ✚ tetraterpen (40 karbon) dan
- ✚ politerpen (C₅]_n, dimana $n > 8$).

Terpen disintesis untuk menolak serangga, herbivor pemakan, dan untuk menarik serangga predator dan parasit pemakan herbivor. Biosintesis terpen dapat terjadi melalui dua lintasan, yaitu lintasan asam mevalonat. Tiga molekul asetil ko-A bergabung membentuk asam mevalonat kemudian

intermediet berkarbon enam (6) ini mengalami pyrophosphorylasi, dekarboksilasi dan dehidrasi menghasilkan intermediet isopenthyenyl diphosphate (IPP). IPP adalah struktur ber C5 penyusun terpen. Lintasan kedua adalah lintasan methylerythritol phosphate (MEP) (Champbell et al 2002; Harindar et al., 2010). Tumbuhan menghasilkan banyak produk sekunder yang mengandung gugus fenol. Senyawa ini dikelompokkan ke dalam senyawa fenolik yang jumlahnya hampir mencapai 10.000. Phenylalanin adalah intermediate biosintesis sebagian besar fenol tumbuhan. Senyawa aromatik ini dibentuk melalui beberapa lintasan yang berbeda. Dua lintasan dasar yang terlibat adalah lintasan asam sikimat yang berpartisipasi pada sebagian besar fenolik tumbuhan dan lintasan asam malonat (Harindar et al., 2010). Lintasan asam sikimat terdapat di 9 tumbuhan, fungi dan bakteri tetapi tidak terdapat di hewan.



Gambar 2.1. Mekanisme terbentuknya senyawa metabolik sekunder pada Tanaman

Klas senyawa sekunder fenolik yang terbanyak di tumbuhan diperoleh dari phenylalanin melalui eliminasi molekul ammonia dari asam sinamat. Reaksi ini dikatalis oleh phenylalanine ammonia lyase (PAL), enzim yang paling banyak dipelajari pada metabolisme sekunder tumbuhan. Phenylalanin

berada pada titik percabangan antara metabolisme primer dan sekunder sehingga reaksi yang dikatalisnya adalah tahap regulasi yang penting pada pembentukan banyak senyawa fenolik. Aktivitas PAL dapat ditingkatkan oleh faktor lingkungan, seperti nutrisi yang rendah, cahaya (melalui pengaruhnya pada fitokrom) dan infeksi fungi. Kontrolnya terjadi pada inisiasi transkripsi. Contohnya, invasi fungi memicu transkripsi mRNA yang mengkode PAL, sehingga meningkatkan jumlah PAL di tumbuhan, yang akan menstimulir sintesis senyawa fenol. Regulasi aktivitas PAL pada tumbuhan menjadi semakin kompleks adanya banyak gen pengkode berbagai PAL, beberapa diantaranya hanya diekspresikan pada jaringan spesifik atau hanya dibawah kondisi lingkungan tertentu. Reaksi-reaksi selanjutnya yang dikatalisis PAL adalah penambahan gugus hidroksil dan substituen lainnya. Transsinamic acid, pcoumaric acid dan derivatnya adalah senyawa fenol sederhana yang disebut phenylpropanoid karena mengandung cincin benzen (Campbell et al 2002).

Flavonoid merupakan kelas terbesar pada senyawa fenolik tumbuhan, yang berdasarkan derajat oksidasi pada jembatan berkarbon 3 dibagi menjadi empat kelompok utama, yaitu: a) anthosianin, b) flavon, c) flavonol dan d) isoflavon (Harinder et al., 2010). Anthosianin adalah flavonoid berwarna menarik hewan (serangga) Pigmen berwarna pada tumbuhan ada dua yaitu karotenoid dan flavonoid. Karotenoid yang terlihat adalah terpenoid berwarna kuning, oranye dan merah yang berfungsi sebagai pigmen asesori pada fotosintesis. Flavonoid adalah senyawa fenolik yang menyusun lebih banyak variasi warna. Flavonoid pigmen yang paling banyak terdistribusi adalah antosianin yang bertanggungjawab pada sebagian besar warna merah, pink, ungu, dan biru pada bagian-bagian tumbuhan. Sebagai warna bunga dan buah antosianin penting untuk menarik hewan pollinator dan penyebar biji.

Antosianin adalah glikosida yang memiliki gula pada posisi 3 atau kadang di posisi lain. Antosianin tanpa gula dikenal sebagai antosianidin. Warna antosianin dipengaruhi beberapa 10 factor termasuk jumlah gugus hidroksi dan metoksil di cincin B antosianidin, keberadaan asam asomatik yang teresterifikasi di kerangka utama dan pH vakuola sel dimana senyawa ini disimpan. Antosianin juga dapat berada di kompleks supra molekul bersama-sama ion ligan pengkelat dan kopigmen flavon. Adanya berbagai faktor yang mempengaruhi warna antosianin dan kemungkinan keberadaan karotenoid maka dapat dipahami banyaknya variasi warna bunga dan buah yang dapat dilihat di alam. Evolusi warna bunga ini dapat disebabkan karena

terseleksinya polinator berdasarkan warna bunga yang disukai. Selain warna sebagai sinyal penarik polinator bunga senyawa volatil khususnya monoterpen seringkali menghasilkan aroma yang atraktif.

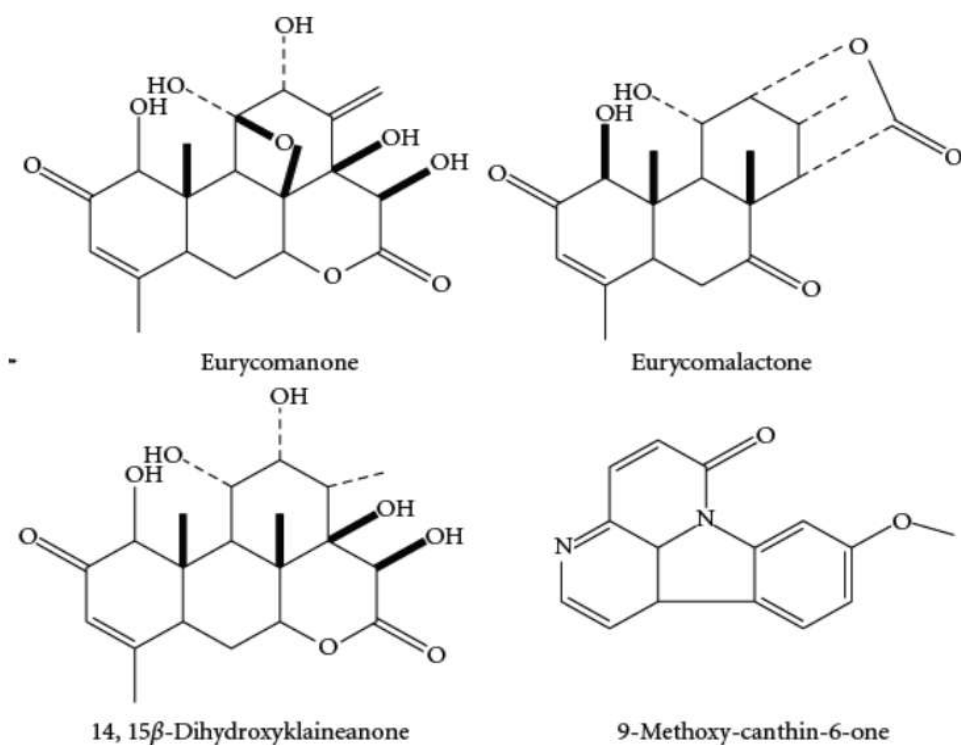
Flavonoid melindungi kerusakan yang disebabkan cahaya ultraviolet. Dua kelompok utama flavonoid yang dijumpai di bunga adalah flavon dan flavonol. Flavonoid jenis ini mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang yang lebih pendek daripada yang diserap antosianin. Namun hal ini menguntungkan lebah untuk mengetahui posisi madu di bunga. Flavon dan flavonol tidak terbatas di bunga; senyawa ini juga terdapat di daun semua tumbuhan hijau. Dua jenis flavonoid ini melindungi sel dari radiasi UV-B yang berlebih karena senyawa ini terakumulasi di lapisan epidermal daun dan batang dan mengabsorpsi daerah UVB sementara panjang gelombang yang dibutuhkan untuk fotosintesis tetap tidak terganggu. Isoflavonoid memiliki aktivitas antimikrobia. Isoflavonoid adalah kelompok flavonoid dengan posisi satu cincin aromatik B berubah. Isoflavon banyak dijumpai di legume. Isoflavon juga dikenal sebagai senyawa fitoaleksin, senyawa antimikrobia yang disintesis sebagai respon terhadap infeksi bakteri atau fungal untuk mencegah perluasan invasi patogen (Harbone, 1987).

2.3. Senyawa Bioaktif Pasak Bumi

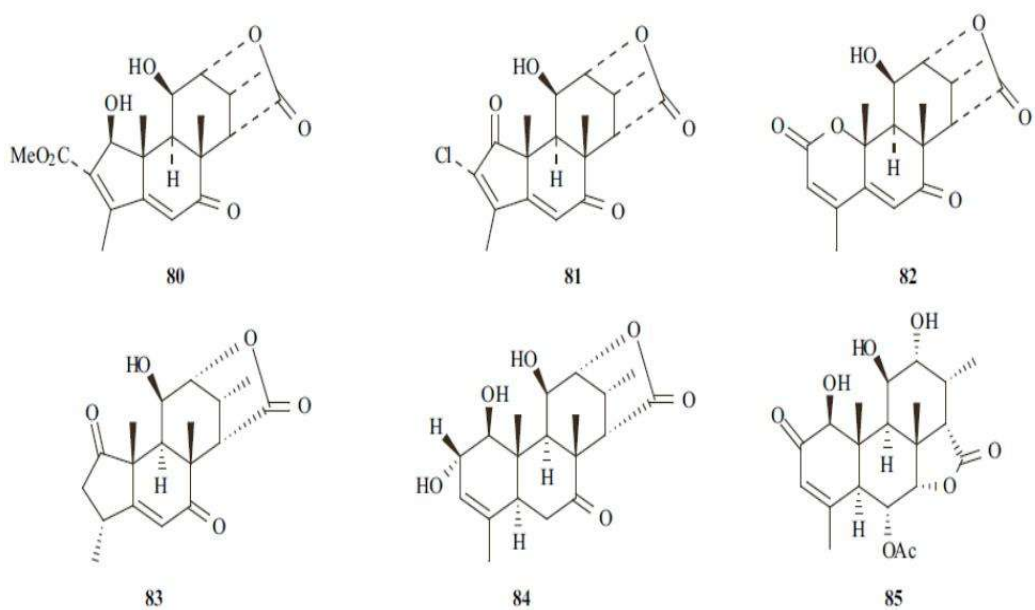
Hasil analisis yang telah dilakukan oleh beberapa ahli baik dari Malaysia, Jepang, Thailand juga Indonesia menyatakan bahwa dalam akar pasak bumi terdapat kandungan kimia : (1) aervin, (2) kampesterol, (3) kanton-6-on,9- hidroksi, (4) kanton-6-on, 9-hidroksi,n-oksida, (5) kanton-6-on, 9-metoksi, (6) kanton-6-on,9-metoksi,n-oksida, (7) karbolina, β -1-asid propionik, (8) karbolina,- 7-metoksi, 1-asid propionik, (9) eurikomalakton, (10) eurikomanol, (11) 11 eurikomanol, 13- β -18-dihidro, (12) eurikomanol,- 2- β -D-glukosida, (13) eurikomanon, (14) eurikomanona, 13-21-dihidro, (15) eurikomanona, 13-beta-21- dihidroksi, (16) klainanon, 14-15-beta-dihidroksi, (17) klainanon,14-15- dihidroksi, (18) longilaston, (19) β -sitosterol, (20) stigmasterol. Beberapa senyawa aktif *Eurycoma longifolia* yang sering diisolasi dapat dilihat pada Gambar 2.2 dan 2.3

Berdasarkan kajian farmakologis diperoleh informasi bahwa senyawa *canthin* pada pasak bumi mampu menghambat pertumbuhan sel kanker, senyawa turunan *eurycomanone* sebagai anti malaria, senyawa *quassinoid* berfungsi sebagai anti leukimia, dan prospektif untuk anti *Human*

Immunodeficiency Virus (HIV), serta senyawa *dihydroxyklaineanone* yang berfungsi sebagai afrodisiak (Susilowati, 2008).



Gambar 2.2. Beberapa senyawa bioaktif *Eurycoma longifolia* yang sering diisolasi dan digunakan untuk obat-obatan komersial.



Gambar 2.3: Beberapa senyawa bioaktif *Eurycoma longifolia* (Sumber Guo et al. 2005)

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juni sampai November 2018 di Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

3.2. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, blender, corong, batang pengaduk, shaker orbital, Cimarec stirring and Hotplate, kertas saring, neraca analitik, wadah, aluminium foil, dan tissue, pipet tetes, gunting, spatula, seperangkat peralatan HPLC, spektrofotometer dan komputer. Bahan yang digunakan yaitu Aquadest, etanol 96%, logam magnesium, padatan KI (Kalium Iodida), padatan FeCl_3 (Besi(III) Klorida), HCl (Asam Klorida), H_2SO_4 (Asam Sulfat), padatan $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ (Bismut(III) Nitrat), HNO_3 (Asam Nitrat), padatan HgCl_2 (Merkuri(II) Klorida), sampel digunakan adalah daun dan akar pasak bumi *Eurycoma longifolia* dan *Eurycoma apiculata* yang diperoleh dari hutan larangan adat imbu putui, Kecamatan Tapung, Kabupaten Kampar.

3.3. Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Daun dan akar pasak bumi dibersihkan lalu dipotong kecil-kecil. Selanjutnya dikeringkan daun dan akar pasak bumi yang telah dipotong potong tersebut selama 7 hari (1 minggu). Setelah kering, kemudian dihaluskan sampel daun dan akar pasak bumi tersebut dengan menggunakan blender sampai halus. Setelah itu, daun dan akar pasak bumi yang halus tersebut siap untuk diekstraksi. Pembuatan ekstrak daun dan akar pasak bumi dimulai dengan menimbang 10 gram serbuk daun dan akar pasak bumi. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan 500 mL metanol. Kemudian ditutup erlenmeyer tersebut menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 24 jam pada maserator sambil dikocok menggunakan shaker orbital. Ekstrak disaring menggunakan saring dan filtrat yang didapatkan dipekatkan dengan menggunakan rotary

evaporator pada suhu 50oC-80oC. sampai didapat sampel yang menyerupai pasta atau serbuk dan kemudian digunakan dalam pengujian metabolit sekunder. Pengujian hasil ekstraksi daun dan akar pasak bumi ini akan dilakukan di laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Riau.

3.4. Skrining Fitokimia

3.4.1. Uji Alkaloid

Pengujian dilakukan dengan mengambil masing-masing 2 mL sampel daun dan akar pasak bumi yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol kedalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambah dengan 5 tetes reagen Dragendroff. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid. Selanjutnya untuk pengujian Alkaoid dengan menggunakan reagen mayer dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun dan akar pasak bumi yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol ke dalam 2 buah tabung reaksi yang berbeda. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambah 3 tetes asam klorida pekat dan 5 tetes reagen Mayer. Jika masing-masing larutan terbentuk endapan putih maka sampel positif mengandung alkaloid (Harborne, 1987).

3.4.2. Uji Flavonoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun dan akar pasak bumi yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing-masing ditambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid (Harborne, 1987).

3.4.3. Uji Terpenoid

Pengujian dilakukan dengn cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun dan akar pasak bumi yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. Setelah itu masing-masing ekstrak, ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna merah atau ungu maka positif mengandung terpenoid (Harborne, 1987).

3.4.4. Uji Steroid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun dan akar pasak bumi yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. Setelah itu masing-masing ekstrak ditambahkan dengan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna hijau maka positif mengandung steroid (Harborne, 1987).

3.4.5. Uji Tanin

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 2 mL sampel daun dan akar pasak bumi yang telah diekstraksi dengan pelarut air dan etanol, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing-masing ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Jika masing-masing larutan terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman maka positif mengandung tanin (Harborne, 1987).

3.4.6. Pengukuran Kadar Fenolik Total

Pengukuran kadar fenolik total diukur dengan metode spektrofotometer (Singleton, 1999). Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL metanol digunakan untuk analisis. 0,5 ml ekstrak yang telah dilarutkan dengan metanol diambil, ditambahkan dengan 2,5 ml reagen Folin Ciocalteu 10% yang dilarutkan dalam air, kemudian ditambahkan 2,5 ml NaHCO₃ 7.5%. Blanko yang digunakan berupa campuran 0.5 ml metanol, 2.5 ml reagen Folin Ciocalteu yang dilarutkan dalam air dan 2,5 ml NaHCO₃ 7.5%. sampel-sampel tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 45°C selama 45 menit. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali dan pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 765 nm. Prosedur yang sama dilakukan untuk membuat kurva standar asam galat. Berdasarkan pengukuran absorbansi, total fenol dapat dihitung dari kurva standar, kemudian total fenol ekstrak ditunjukkan dalam gallic acid equivalent (GAE) (mg/g) dengan rumus sebagai berikut:

$$Total\ Fenol\ GAE = c \left(\frac{V}{m} \right)$$

Dimana: c = konsentrasi total fenol dari kurva standar asam galat (mg/L);

V = volume ekstrak (L)

m = berat ekstrak (g)

3.4.7. Pengukuran kadar Flavonoid

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL akuades, lalu sebanyak 5 ml larutan ekstrak diambil dan ditambahkan dengan 0.3 mL NaNO₂ 5%. Selanjutnya campuran ekstrak ditambahkan AlCl₃ 10% yang dilarutkan dengan metanol dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Setelah inkubasi, sebanyak 2 ml NaOH 1 M ditambahkan dan volume ditera sampai 10 ml dengan akuades. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 510 nm. Pengukuran dilakukan 3 kali ulangan dan penentuan total flavonoid dinyatakan dalam Kuersetin equivalent (C) (ug/ml) dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total Flavonoid } C = c \left(\frac{V}{m} \right)$$

Dimana:

c = konsentrasi total flavonoid dari kurva standar kuersetin (ug/ml);

V = volume ekstrak (L)

m = berat ekstrak (g)

3.4.8. Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan menggunakan metode DPPH berdasarkan kemampuan sampel yang digunakan dalam mereduksi radikal bebas stabil 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Blanko dibuat dari larutan methanol dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 ppm. Sebanyak 0,01 mg ekstrak akar dan daun pasak bumi dibutuhkan untuk membuat larutan stok dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 ppm. Sebanyak 0,0004 mg asam askorbat sebagai standar ditimbang lalu ditambah 50 ml metanol dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; dan 3,125 ppm. Selanjutnya 0,0098 mg DPPH diencerkan dengan 25 ml metanol. Selanjutnya pemberian DPPH pada larutan stok dan asam askorbat untuk masing-masing konsentrasi. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37 oC selama 30 menit. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 517 nm. Persentase penghambatan aktivitas radikal bebas diperoleh dari nilai absorbansi sampel. Persamaan regresi diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan presentase penghambatan aktivitas radikal bebas. Aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel dan antioksidan pembanding asam askorbat dinyatakan dengan persen inhibisi, yang dihitung dengan formulasi sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC50) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier. Nilai IC50 diperoleh dengan memasukkan $y = 50$ serta nilai A dan B yang telah diketahui. Nilai x sebagai IC50 dapat dihitung dengan persamaan : $y = A + B \ln(x)$ dimana Y = persen inhibisi; X = konsentrasi sampel (ppm); A = slope; B = intercept

3.5. Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian akan dilakukan analisis secara statistik yang meliputi perhitungan rata-rata, dan analisis regresi dengan menggunakan software excel, dan selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan histogram.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

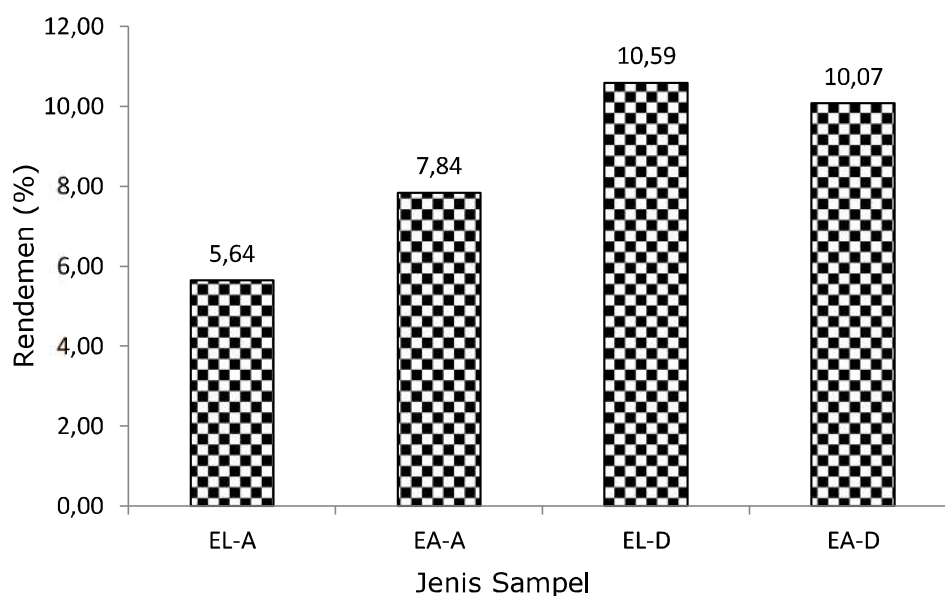
4.1. Ekstraksi dan Skrining fitokimia

Ekstraksi senyawa metabolik sekunder pada daun dan akar pasak bumi menggunakan pelarut metanol, dimana rendemen yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 4.1. Persentase rendaman yang diperoleh lebih tinggi pada bagian daun yaitu 10.07–10.59% dibandingkan dengan bagian akar yaitu 5.64-7.84%. perbedaan jumlah rendemen ini mungkin terkait dengan perbedaan sampel yang digunakan dan senyawa penyusun dinding sel sampel. Dinding sel pada akar lebih keras dibandingkan dengan bagian dinding sel pada daun. rendemen ekstraksi akar pasak bumi *Eurycoma longifolia* lebih rendah dari rendemen akar pasak bumi *Eurycoma apiculata*, tetapi untuk rendemen ekstraksi dari daun, *eurycoma longifolia* lebih tinggi dibandingkan dengan *Eurycoma apiculata*.

Uji fitokimia meliputi uji terpenoid atau steroid, uji flavonoid, uji alkaloid, uji fenolik, dan uji saponin. Hasil uji fitokimia akar dan daun pasak bumi dapat dilihat pada Tabel 4.1. Uji terpenoid, alkaloid dan fenolik bereaksi positif dengan bagian akar dan daun pasak bumi, sedangkan uji flavonoid dan uji saponin bereaksi positif dengan bagian daun pasak bumi dan bereaksi negatif dengan bagian akar pasak bumi. Bereaksi positif (+) mengindikasikan bahwa pada bagian tanaman tersebut ada kelompok senyawa metabolik sekunder tertentu dan semakin banyak tanda positifnya kemungkinan kandungan senyawa bioaktif tersebut semakin besar, sebaliknya jika reaksi negatif mengindikasikan bahwa pada bagian tersebut tidak terdeteksi kelompok senyawa metabolik sekunder tersebut.

Metabolik sekunder kelompok flavonoid dan saponin tidak terdeteksi pada bagian akar pasak bumi *eurycoma longifolia* (PJ-A) dan pasak bumi *eurycoma apiculata* (PB-A) sedangkan pada daun kedua pasak bumi tersebut terdeteksi adanya senyawa flavonoid dan saponin. Konsentrasi flavonoid dan saponin lebih tinggi pada daun pasak bumi *eurycoma apiculata* dibandingkan dengan daun pasak bumi *eurycoma longifolia*. Uji fitokimia juga menunjukkan bahwa kandungan terpenoid dan fenolik pada bagian akar dan daun pasak bumi *eurycoma apiculata* (PB-A dan PB-D) lebih tinggi dibandingkan kandungan terpenoid pada akar dan daun pasak bumi *eurycoma longifolia* (PJ-A dan PJ-D). Kandungan alkaloid pada daun pasak bumi *eurycoma*

longifolia dan eurycoma apiculata adalah sama, sedangkan kandungan alkaloid pada bagian akar pasak bumi eurycoma apiculata lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan alkaloid pada bagian akar pasak bumi eurycoma longifolia.



Gambar 4. 1. Rendemen Ekstraksi daun dan akar pasak bumi dengan plarut metanol, akar pasak bumi eurycoma longifolia (EL-A), akar pasak bumi eurycoma apiculata (EA-A), daun pasak bumi eurycoma longifolia (EL-D), daun pasak bumi eurycoma apiculata (EA-D)

Tabel 4.1. Hasil uji fitokimia akar dan daun pasak bumi

Senyawa	PBA	PJA	PBD	PJD
Terpenoid/ Steroid	++++	+++	++++	+++
Flavonoid	-	-	++	+
Alkaloid	+++	++	++	++
Fenolik	++	+	++++	+++
Saponin	-	-	+++	++

Keterangan: + = ada, - = tidak ada; PJA = akar pasak bumi eurycoma longifolia, PBA = akar pasak bumi eurycoma apiculata, PJD = daun pasak bumi eurycoma longifolia, PBD = daun pasak bumi eurycoma apiculata

kandungan alkaloid pada bagian akar pasak bumi dalam studi ini tidak ditemukan, hasil sejalan dengan hasil penelitian khanam et al. (2015) yang juga tidak menemukan adanya alkaloid pada hasil ekstraksinya meskipun

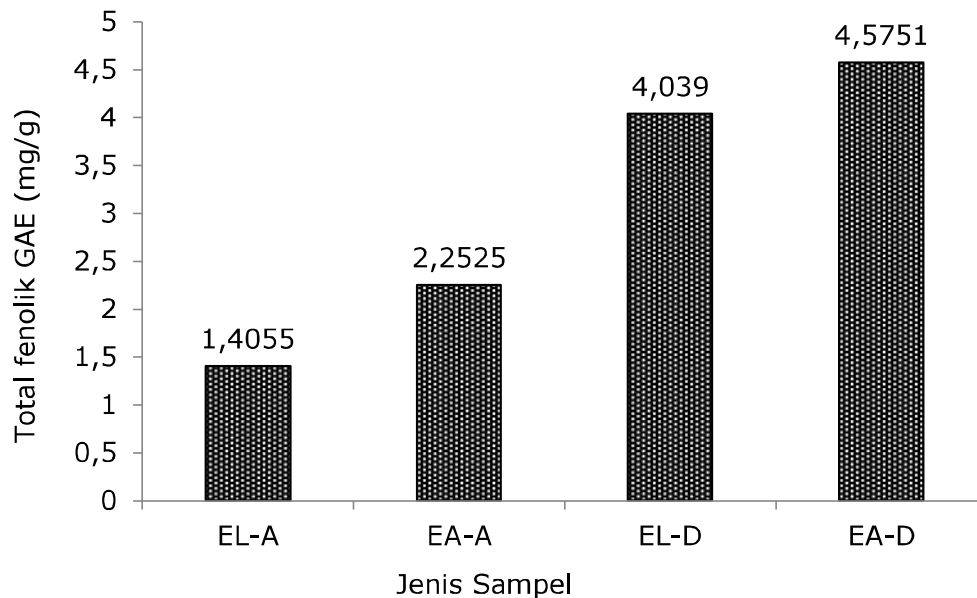
telah menggunakan berbagai pelarut, tetapi berlawanan dengan hasil penelitian Kuo et al. (2013) yang menemukan adanya alkaloid. Dalam studi ini tidak berhasil mendeteksi adanya kandungan saponin pada bagian akar pasak bumi, hal ini sesuai dengan Hasil penelitian Khanam et al. (2015). Kandungan flavonoid pada studi ini berhasil dideteksi tetapi hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Khanam et al. (2015) yang tidak mampu mendeteksi kandungan flavonoid.

4.2. Kadar Fenolik Total

Hasil uji kandungan fenolik total pada akar dan daun pasak bumi dapat dilihat pada Gambar 4.2. Secara umum terlihat bahwa pada bagian daun kedua jenis pasak bumi memiliki kandungan fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian akar. Tingginya kadar fenolik pada daun kemungkinan karena fotosintesis terjadi pada daun. Sinar matahari merupakan sumber energi yang digunakan tumbuhan untuk aktivitas fotosintesis. Selain menghasilkan senyawa karbohidrat (metabolit primer) untuk pertumbuhan, proses fotosintesis juga menghasilkan senyawa metabolit sekunder dan produk sampingan berupa ROS (*reactive oxygen species*). ROS bersifat toksik dan berpotensi merusak komponen fotosintesis. Keberadaan ROS dapat direduksi dan dikontrol oleh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan enzim anti oksidatif. Shebis et al. (2013) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dapat menjaga sel intra selular mempertahankan kadar ROS pada tingkat yang rendah.

Hasil penelitian ini lebih rendah dari dari hasil penelitian Hasan et al. (2015) yang memperoleh kandungan total fenolik pada bagian akar pasak bumi *Eurycoma longifolia* adalah 30.85 mg (GAE)/g (sampel kering) dengan pelarut metanol dan 52.72 mg(GAE)/g (sampel kering). Rendahnya kandungan fenolik hasil studi ini karena dipengaruhi oleh genotipe, lingkungan (tempat tumbuh) dan pelarut ekstraksi yang digunakan. Genotipe dan tempat tumbuh sampel yang dianalisis dalam studi ini berbeda dengan yang dianalisis oleh Hasan et al. (2015) sehingga itu menjadi penyebab hasilnya berbeda. Berbagai jenis pelarut memiliki kapasitas yang berbeda untuk mengekstraksi zat fenolik sehingga pelarut yang berbeda dengan polaritas yang berbeda cenderung memberikan hasil yang berbeda. Pelarut dengan polaritas tinggi dapat meningkatkan hasil ekstraksi kandungan fenolik. Namun, pelarut tersebut memiliki kemampuan yang besar dalam

mengekstraksi senyawa polar dan non polar, sementara pelarut non polar paling baik dalam melarutkan hanya senyawa non polar.



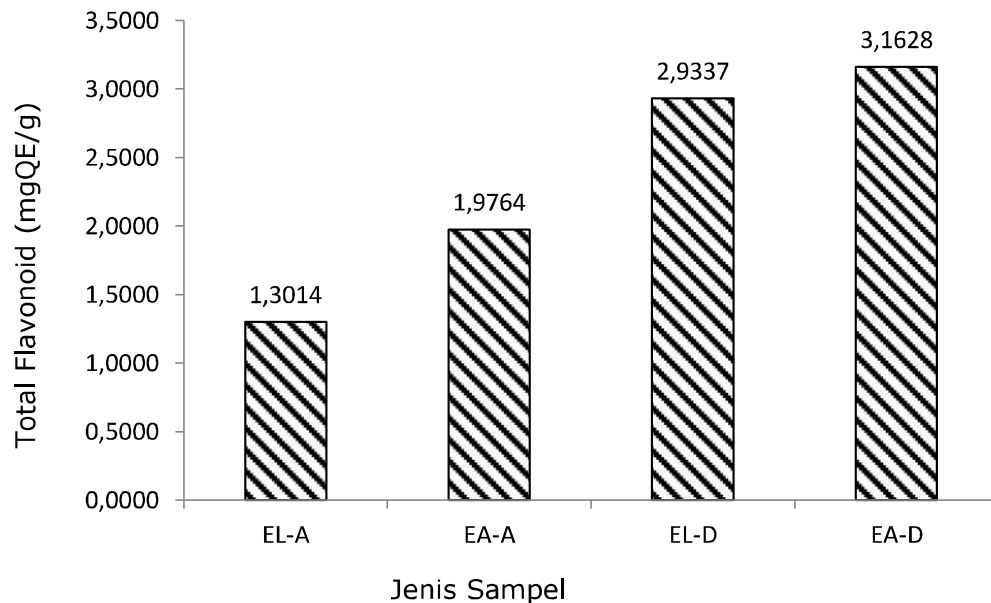
Gambar 4.2. Kandungan fenolik pada akar dan daun pasak bumi; akar pasak bumi eurycoma longifolia (EL-A), akar pasak bumi eurycoma apiculata (EA-A), daun pasak bumi eurycoma longifolia (EL-D), daun pasak bumi eurycoma apiculata (EA-D).

Kandungan fenolik dievaluasi dengan kemampuan mereduksi gugus fungsi fenolik. Proses reduksi kandungan fenolik kemudian akan berubah warna menjadi biru. Peningkatan kandungan fenolik ditunjukkan dengan meningkatnya warna gelap yang menunjukkan kemampuan tinggi aktivitas antioksidan. Seperti yang dijelaskan oleh Manach et al. (2004), selain jenis pelarut, faktor lingkungan seperti jenis tanah, curah hujan dan paparan matahari juga bertindak sebagai faktor utama yang mempengaruhi kandungan fenolik dari ekstrak tumbuhan. Oleh karena itu, berbagai jenis tanaman menunjukkan kandungan fenolik total yang berbeda.

4.3. Kadar Flavonoid

Hasil perhitungan kadar flavonoid akar dan daun pasak bumi dapat dilihat pada Gambar 4.3. Kadar flavonoid pada bagian daun lebih tinggi dibandingkan dengan bagian akar. Kadar flavonoid pasak bumi jenis *Eurycoma apiculata* lebih tinggi dibandingkan dengan kadar flavonoid pasak bumi *eurycoma longifolia*. Skrining flavonoid dengan uji sianidin seperti pada Tabel 1 tidak mampu mendeteksi adanya senyawa fenolik pada bagian akar

tanaman pasak bumi, tetapi dengan uji Folin Ciocalteu dapat dideteksi adanya kadar flavonoid pada bagian akar yaitu 1.3014 (mg/g) untuk akar pasak bumi eurycoma longifolia dan 1.9764 mg/g untuk akar pasak bumi eurycoma apiculata. Tidak terdeteksi senyawa flavonoid pada skrining fitokimia kemungkinan karena pengukuran warna yang tidak spesifik terhadap flavonoid dan barangkali ada senyawa lain yang bereaksi dengan sianidin.

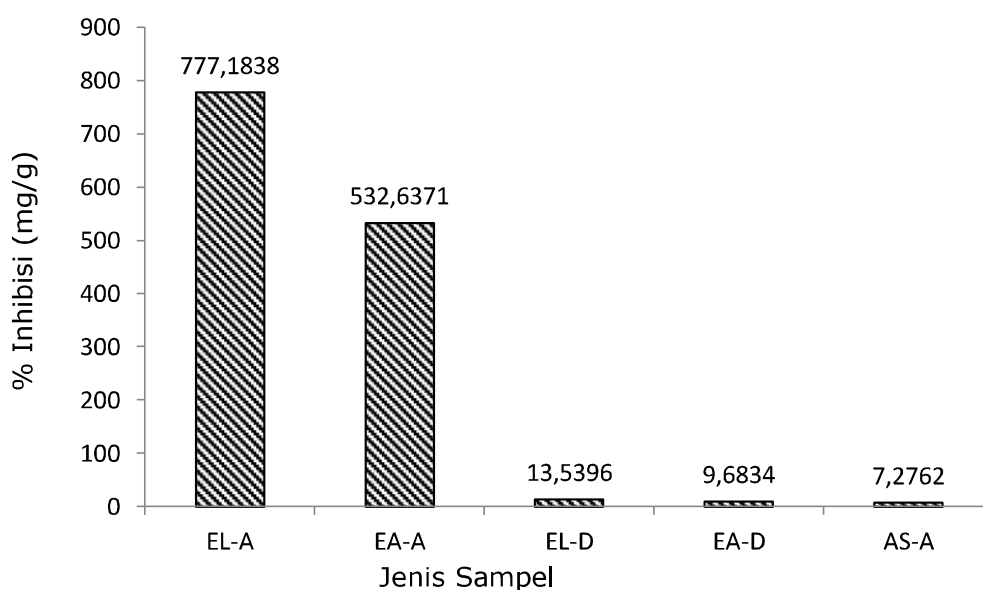


Gambar 4.3. Kandungan flavonoid pada akar dan daun pasak bumi; ; akar pasak bumi eurycoma longifolia (EL-A), akar pasak bumi eurycoma apiculata (EA-A), daun pasak bumi eurycoma longifolia (EL-D), daun pasak bumi eurycoma apiculata (EA-D).

4.4. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan melalui reaksi peredaman atau penangkapan radikal DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). DPPH merupakan faktor utama yang menyebabkan kerusakan biologi dan DPPH ini digunakan untuk mengevaluasi aktivitas penangkapan radikal bebas dari suatu antioksidan alami. DPPH adalah radikal bebas yang dapat berubah warna dari ungu menjadi kuning ketika direaksikan dengan antioksidan. Yuhernita dan Juniarti (2011) menyatakan bahwa pada saat DPPH berubah warna, antioksidan memberikan satu elektron dan meredam sifat radikal bebas DPPH. Aktivitas penangkapan radikal bebas biasanya dinyatakan sebagai persentase inhibisi DPPH atau dapat juga dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (IC₅₀). Nilai IC₅₀ dianggap

sebagai ukuran yang baik dari efisiensi antioksidan senyawa murni maupun ekstrak. Aktivitas antioksidan akar dan daun pasak bumi dapat dilihat pada Gambar 4.4. Nilai IC₅₀ pada daun pasak bumi lebih tinggi dibandingkan dengan pada akar pasak bumi. Nilai IC₅₀ pada daun dan akar tanaman pasak bumi *Eurycoma longifolia* lebih tinggi dari nilai IC₅₀ tanaman pasak bumi *Eurycoma apiculata*. Tingkat aktivitas antioksidan dapat dikelompokkan menjadi empat tingkat, yaitu sangat kuat jika nilai IC₅₀ < 50 ppm, kuat jika nilai 50 < IC₅₀ < 100 ppm, sedang nilai 100 ppm < IC₅₀ < 250 ppm, dan lemah jika nilai 250 ppm < IC₅₀ < 500 ppm, dan tidak aktif IC₅₀ > 500 ppm (Jun et al., 2006). Dari kriteria tersebut, maka aktivitas antioksidan pada daun sangat kuat (IC₅₀ < 50 ppm) sedangkan aktivitas antioksidan pada akar sangat lemah (IC₅₀ > 500 ppm).



Gambar 4.4. Nilai IC₅₀ pada akar dan daun pasak bumi, ; akar pasak bumi *Eurycoma longifolia* (EL-A), akar pasak bumi *Eurycoma apiculata* (EA-A), daun pasak bumi *Eurycoma longifolia* (EL-D), daun pasak bumi *Eurycoma apiculata* (EA-D), Asam askorbat (AS-A) sebagai kontrol

Dalam penelitian ini kami juga menghitung nilai penghambatan radikal bebas oleh asam askorbat sebagai pembanding. Asam askorbat sintetik digunakan sebagai standar referensi karena merupakan antioksidan yang paling terkenal. Asam askorbat adalah donor elektron dan sifat ini diperhitungkan untuk semua fungsi yang diketahui (Padayatty et al., 2003). Nilai IC₅₀ asam askorbat adalah 7,2762 µg/mL. Nilai IC₅₀ asam askorbat ini lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC₅₀ sampel penelitian, tetapi nilai

IC50 pada bagian daun masih berada dalam kategori sangat kuat sama dengan asam askorbat karena nilai IC50 masih dibawah 50 µg/mL. Verghese et al. (2013) memperoleh nilai IC50 pada bagian akar pasak bumi adalah 169.56 µg/ml, lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC50 pada bagian akar kedua pasak bumi dalam studi, tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan nilai IC50 pada bagian daun pasak bumi. Hasan et al. (2015) memperoleh IC50 pada bagian akar pasak bumi *Eurycoma longifolia* adalah 127 µg/ml dengan pelarut etil eter dan 150 µg/ml dengan pelarut metanol. Nilai IC50 akar dalam studi ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Hasan et al. (2015), tetapi IC50 daun lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Hasan et al. (2015).

Golongan senyawa yang diduga berpotensi antioksidan adalah kelompok flavonoid, fenolik dan terpenoid karena pada strukturnya mengandung gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas. Rendahnya aktivitas antioksidan pada bagian akar diduga karena lemahnya aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dalam ekstrak. Hal itu disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor yang pertama adalah senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daun pasak bumi dalam keadaan tidak murni diduga senyawa flavonoid masih berikatan dengan gugus glikosida. Gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid dapat menurunkan aktivitas antioksidan. Fukumoto dan mazza (2000) menerangkan bahwa aktivitas antioksidan akan meningkat dengan bertambahnya gugus hidroksil dan aktivitas antioksidan akan menurun dengan adanya gugus glikosida. Senyawa flavonoid di alam umumnya sangat jarang ditemukan dalam bentuk aglikon flavonoid, flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida (flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal/ aglikon flavonoid (harborne, 1987).

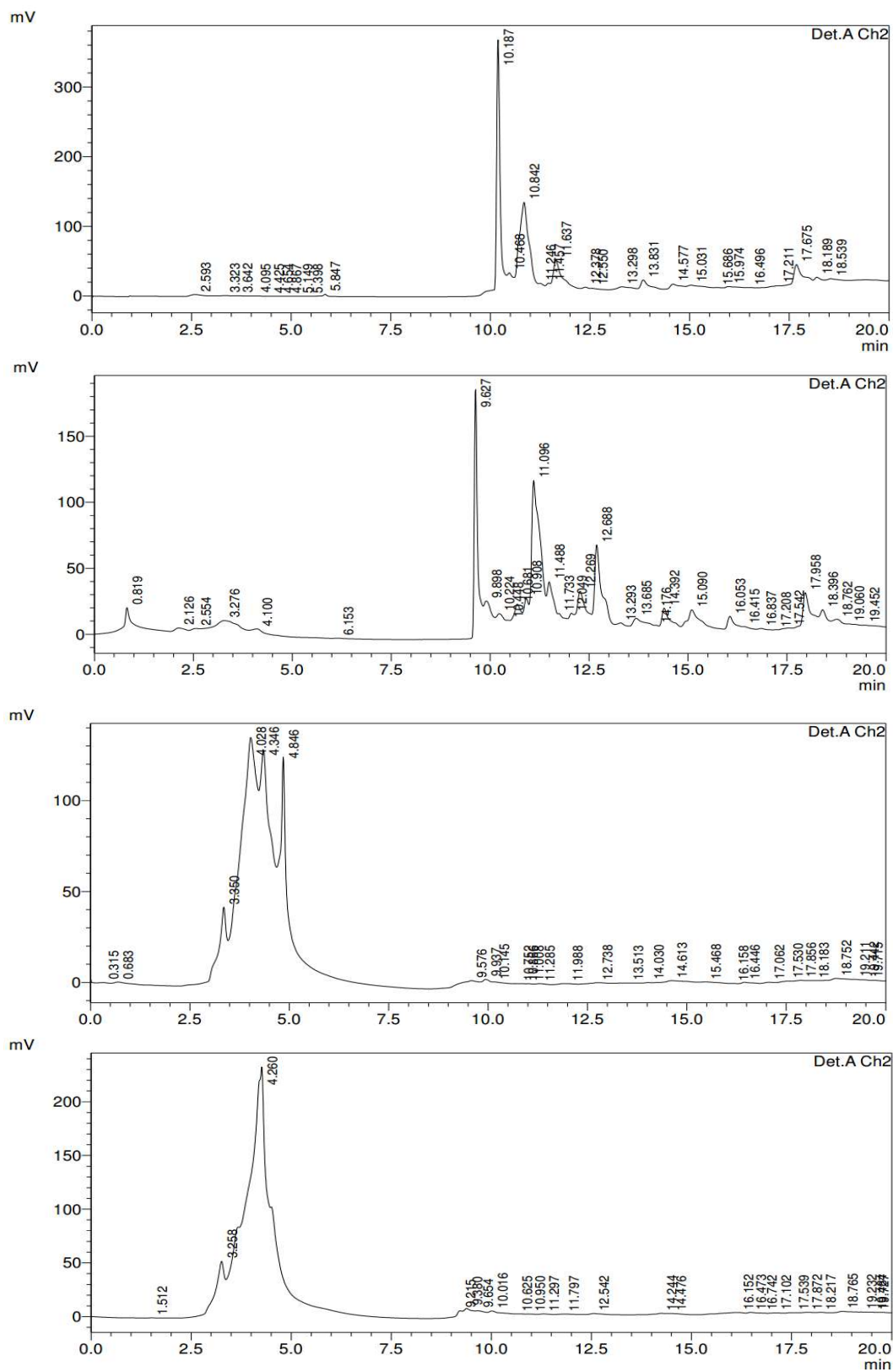
Faktor kedua yang menyebabkan lemahnya aktivitas antioksidan diduga senyawa yang terdapat dalam ekstrak adalah flavonoid golongan flavonon. Senyawa flavonon pada umumnya memiliki aktivitas antioksidan yang lemah (Burda dan Oleszek, 2001). Lebih lanjut (Burda dan Oleszek, 2001) menjelaskan bahwa lemahnya aktivitas antioksidan senyawa flavonon karena gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonon hanya sedikit dan pada cincin C flavonon tidak memiliki ikatan ganda pada ikatan 2-3 gugus 4-okso, sehingga kemungkinan besar untuk menstabilkan struktur senyawanya kehilangan elektron dari proses donor hidrogen dalam struktur

senyawa flavonon tidak terjadi dengan demikian senyawa golongan flavonon pada umumnya memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lemah.

Selain skirining fitokimia dan uji kuantitatif flavonoid, fenolik dan antioksidan, kami juga melakukan analisis HPLC pada panjang gelombang 254 nm dan kromatogramnya dapat dilihat pada Gambar 4.5. Berdasarkan kromatogram tersebut terdeteksi bahwa kedua jenis pasak bumi pada bagian akar dan daun memiliki puncak gelombang dan waktu retensi yang berbeda, yang mengindikasikan bahwa dominansi senyawa yang diakar berbeda dengan senyawa yang ada di daun. Senyawa metabolik sekunder yang ada di bagian akar kemungkinan adalah kelompok alkaloid dan senyawa yang ada di daun adalah kelompok senyawa Alkaloid, fenolik dan flavonoid dan klorofil. Dari kromatogram pada gambar 4.5 dibuat ringkasan waktu retensi, persentase area dan persentase tinggi kromatogram yang dominan seperti terlihat pada Tabel 4.2. Menurut Hiroyuki et al. (2013) bahwa fenol-enol sederhana dielusi pada waktu retensi antara 5.8 dan 34.3 menit, flavon, flavanol, isoflavon dan flavonon dalam bentuk glikosida dielusi antara 20.1 -61.4 menit.

Tabel 4.2. waktu retensi, persentase area dan persentase tinggi kromatogram pada panjang gelombang 254 nm.

Sampel	Waktu Retensi	% area	% tinggi
Akar <i>Eurycoma apiculata</i> (PBA)	10.187	31.955	52.554
	10.842	29.052	19.008
	11.637	10.989	6.881
	17.675	5.478	4.187
Akar <i>Eurycoma longifolia</i> (PJA)	9.627	10.467	24.052
	11.096	17.357	15.085
	11.488	4.853	5.274
	12.265	5.556	4.286
	12.688	9.389	8.714
Daun <i>Eurycoma apiculata</i> (PBD)	3.350	6.228	9.135
	4.028	37.279	28.677
	4.346	24.059	27.215
	4.846	23.235	26.439
Daun <i>Eurycoma longifolia</i> (PJD)	3.258	7.065	15.121
	4.260	82.201	66.974



Gambar 4.5. Kromatogram daun dan akar pasak bumi pada panjang gelombang 254 nm, a) daun pasak bumi *Eurycoma apiculata*, b) daun pasak bumi *Eurycoma longifolia*, c) akar pasak bumi *Eurycoma apiculata*, d) akar pasak bumi *Eurycoma longifolia*

BAB V

PENUTUP

5.1. KESIMPULAN

1. Adanya perbedaan senyawa metabolik sekunder yang ada di daun dan akar pasak bumi.
2. Kandungan fenolik lebih pada bagian daun adalah 4.039-4.5751 mg GAE/g tinggi dibandingkan dengan bagian akar yaitu 1.4055-2.2525 mgGAE/g.
3. Aktivitas antioksidan sangat kuat (<50 ppm) pada bagian daun dibandingkan pada bagian akar pasak bumi.

5.2. SARAN

Ekstrak dari daun dan akar pasak bumi perlu difraksinasi untuk mendapatkan senyawa yang lebih murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhat, R., & Karim, A.A. 2010. Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia*): A review on its ethobotany and pharmacological importance. *Fitoterapia*, 81: 669-679.
- Burda dan oleszek W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoid. *J agric food chem* 49(6):2774-2779.
- Champbell, NA, J.B. Reece dan L.G. Mitchell. 2002. *Biologi I. Terjemahan*, PT. Erlangga. Jakarta.
- Chua, L.S., Moh Amin, N. & Neo, J.C.H. 2011. LC-MS/MS-based metabolites of *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali) in Malaysia (Perak and Pahang). *Journal of Chromatography B*, 879: 3909-3919.
- Chan, K.L., C.Y. Choo, and N.R. Abdullah. 2005. Semisynthetic 15-O-acyl- and 1,15-di-Oacyl-eurycomanones from *Eurycoma longifolia* as potential antimalarials. *Planta Medica* 71(10): 967-9.
- Chan, K.L., C.Y. Choo, H. Morita, and H. Itokawa. 1998. High performance liquid chromatography in phytochemical analysis of *Eurycoma longifolia*. *Planta Medica*, 64(8):741-745.
- Effendy, N.M., Mohamed, N., Muhammad, N., Mohamad, I.N., Shuid, A.N. 2012. *Eurycoma longifolia*: Medicinal Plant in the Prevention and Treatment of Male Osteoporosis due to Androgen Deficiency. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012: 1-9. doi:10.1155/2012/125761.
- Fukumoto, LR dan mazza g. 2000. Assesing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J agric food* 48 (8):3597-3604
- Guo, Z., Vangapandu, S., Sindelar, R.W., Walker, L.A. and Sindelar, R.D. 2005. Biologically Active Quassinoids and Their Chemistry: Potential Leads for Drug Design. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 173-190
- Hariyani, Eko Widaryanto dan Ninuk Herlina. 2015. Pengaruh Umur Panen Terhadap Rendemen Dan Kualitas Minyak Atsiri Tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *Jurnal Produksi Tanaman*, 3(3) : 205-211
- Harborne, J. B. 1987. *Metode fitokimia: penentuan cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: ITB 20
- Hassan W.N.A.W, R. M. Zulkifli, F. Ahmad, M.A.C. Yunus. 2015. Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of *Eurycoma longifolia* and *Swietenia*

- macrophylla. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5(08): 006-010. DOI: 10.7324/JAPS.2015.50802
- Ismail, Z., N. Ismail, and J. Lassa. 1999. Malaysian Herbal Monograph, vol. 1, Malaysian Monograph Committee, Kuala Lumpur, Malaysia,
- Jun M, Fu HY, Hong J, Wang X, Yang CS, Ho CT. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobate ohwi*). Journal of Food Science. 2006; 2117-22.
- Kuo, P.-C., Shi, L.-S., Damu, A.G., Su, C.-R., Huang, C.-H., Ke, C.-H., Wu, J.-B., Lin, A.-J., Bastow, K.F., Lee, K.-H., Wu, T.-S., 2003. Cytotoxic and antimalarial b-carboline alkaloids from the roots of *Eurycoma longifolia*. J. Nat. Prod. 66, 1324–1327.
- Khanam Z, C.S. Wen, I. U. H. Bhat. 2015. Phytochemical screening and antimicrobial activity of root and stem extracts of wild *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali). Journal of King Saud University – Science 27, 23–30
- Lina, E.C., Arneti, D. Prijono, dan Dadang. 2009. Potensi Insektisida Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) terhadap Hama Kubis *Crociodolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). Jurnal Entomologi Indonesia 6(1): 21-29.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jime'nez L. 2004. Polyphenols: Food source and bioavailability. Am J Clin Nutr, 79: 727-747.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radikal diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Journal Science of Technology 26(2):211-219
- Shebis Y, Iluz D, Tahan YK, Dubinsky Z and Yehoshua Y. 2013. Natural antioxidant: Function and Sources. Food and Nutrition Sciences, 4: 634-649.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of Total phenols and other oxidation subrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Methods Enzymol, 299: 152-178.
- Tambi, M.I., M.K. Imran, and R.R. Henkel. 2011. Standardised watersolubleextract of *Eurycoma longifolia*, Tongkat ali, as testosterone booster for men with late- onset hypogonadism. Andrologia 44: 226–230.
- Tee, T.T. and H.L.P. Azimahtol. 2005. Induction of Apoptosis by *Eurycoma longifolia* Jack Extracts. Anti Cancer Research 25: 2205-2214.

- Varghese, CP., C. Ambrose, S.S. Jin, Y.J. Lim, T. Keisaban. 2013. Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Eurycoma longifolia* Jack, A traditional medicinal plant in Malaysia. *International Journal of Pharmaceutical Science and Nanotechnology*, 5(4): 1875-1878.
- Widiarsih, S., dan I. Dwimahyani. 2010. Peningkatan komponen produksi dan kandungan minyak biji tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) Melalui pemuliaan mutasi . *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 12(3): 169 – 175
- Yuhernita, Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara Sain*, 15(1): 48-52.

